

UNIVERZITA KARLOVA  
Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Jan Batěk

NOVÉ ZPŮSOBY ODSTRAŇOVÁNÍ KYSLÍKU Z ANALYZOVANÝCH  
ROZTOKŮ PŘI VOLTAMETRICKÉM STANOVENÍ ORGANICKÝCH LÁTEK

New Methods of Oxygen Removal from Analyzed Solutions  
in Voltammetric Determination of Organic Compounds

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Praha 2018

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 20. srpna 2018.

Tato bakalářská práce byla finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt GAČR P206/12/G151).

## Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za cenné rady a trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěl poděkovat celému kolektivu laboratoře č. 113 za pomoc v mnoha ohledech a zařazení do kolektivu.

Nakonec bych chtěl poděkovat svým rodičům, kteří mi umožnili studium na vysoké škole.

## Klíčová slova

voltametrie  
amalgamové elektrody  
katodická redukce  
odstranění kyslíku  
chemická činidla  
organická analýza  
4-nitrofenol

## Key words

Voltammetry  
Amalgam Electrodes  
Cathodic Reduction  
Oxygen Removal  
Chemical Agents  
Organic Analysis  
4-Nitrophenol

## Abstrakt

Cílem této bakalářské práce bylo ověření nových způsobů odstranění kyslíku z analyzovaných roztoků při voltametrickém stanovení organických látek. Pro odstranění rozpuštěného kyslíku byla zvolena metoda chemické redukce. Pro tyto účely byly použity látky karbohydrazid, *N,N*-diethylhydroxylamin a 2-butanonoxim. Tyto látky se používají k odstranění kyslíku z kotelních systémů. Poslední látkou byl siřičitan sodný. Schopnost látek odstraňovat kyslík byla sledována pomocí techniky diferenční pulsní voltametrie (DPV) v závislosti na pH prostředí (Brittonův-Robinsonův pufr). Jako modelová látka při těchto stanoveních byl použit roztok 4-nitrofenolu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Provedeným výzkumem jsme zjistili, že karbohydrazid neměl na odstranění kyslíku žádný účinek v celém rozsahu pH. Při použití siřičitanu sodného se podařilo odstranit kyslík z analyzovaného roztoku při pH 8, 10 a 12 a stanovení 4-nitrofenolu bylo proveditelné. Použitím *N,N*-diethylhydroxylaminu při pH 10 a 12 a 2-butanonoxim při pH 8, 10 a 12 byl z analyzovaného roztoku odstraněn kyslík. Avšak pro stanovení 4-nitrofenolu jsou tyto látky nevhodné.

## Abstract

The aim of this Bachelor Thesis was to verify new methods of oxygen removal from analyzed solutions in voltammetric determination of organic compounds. A method of chemical reduction was chosen to remove dissolved oxygen. Carbohydrazide, *N,N*-diethylhydroxylamine and 2-butanone oxime were used for removal of dissolved oxygen. These substances are used to remove oxygen from boiler systems. The last agent used to remove oxygen was sodium sulfite. Differential pulse voltammetry (DPV) was used to monitor the ability of oxygen scavengers. The effect of pH of the solution (Britton-Robinson buffer) on oxygen removal was also investigated. A solution of 4-nitrophenol at a concentration of  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  was used as a model substance in these assays. We have found that carbohydrazide had no effect to remove oxygen in the whole pH range. Using sodium sulphite, oxygen was removed from the analyzed solution at pH 8, 10 and 12. Determination of 4-nitrophenol was thus possible. Using *N,N*-diethylhydroxylamine at pH 10 and 12 and 2-butanone oxime at pH 8, 10 and 12, oxygen was removed from the analyzed solutions. However, these substances are unsuitable for the determination of 4-nitrophenol.

# Obsah

Seznam zkratk a symbolů .....	8
1. Cíl práce .....	9
2. Teoretická část .....	10
2.1. Elektrochemie kyslíku .....	10
2.2. Odstraňování kyslíku .....	11
2.2.1. Odstraňování kyslíku pomocí inertního plynu .....	12
2.2.2. Odstraňování kyslíku pomocí redukčního činidla .....	12
2.2.3. Jiné způsoby .....	15
2.3. 4-Nitrofenol .....	16
2.4. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda ....	18
3. Experimentální část .....	19
3.1. Chemikálie .....	19
3.2. Aparatura .....	19
3.3. Pracovní postupy .....	20
3.3.1. Předúprava elektrody .....	20
3.3.2. Voltametrie .....	21
3.3.3. Zpracování výsledků .....	21
4. Výsledky .....	22
4.1. Odstranění kyslíku pomocí siřičitanu sodného .....	22
4.2. Odstranění kyslíku pomocí <i>N,N</i> -diethylhydroxylaminu .....	24
4.3. Odstranění kyslíku pomocí 2-butanonoximu .....	27
4.4. Odstranění kyslíku pomocí karbohydrazidu .....	30
5. Závěr .....	33
Literatura .....	34

## Seznam zkratk a symbolů

BR-pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
DEHA	<i>N,N</i> -diethylhydroxylamin
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda
MEKO	2-butanonoxim (z anglického methylethylketoxime)
p-AgSAE	leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda



## 1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je ověření nových způsobů odstranění kyslíku z analyzovaných roztoků při voltametrickém stanovení organických látek za použití diferenční pulzní voltametrie (DPV) na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE).

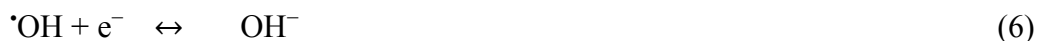
Pro odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku byla zvolena cesta chemické redukce. První látkou byl siřičitan sodný, který má pouze omezené využití, a to v roztocích o zásaditém pH. Z tohoto důvodu bylo cílem najít takové látky, které by se daly použít k odstranění kyslíku i v roztocích o kyselém pH. Další látky byly *N,N*-diethylhydroxylamin, 2-butanonoxim a karbohydrazid. Tyto látky byly studovány pro jejich použití při ochraně kotelních systémů a zařízení na výrobu páry proti korozi způsobené rozpuštěným kyslíkem.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Elektrochemie kyslíku

První polarografická křivka kyslíku byla získána už v roce 1922 z měření prof. Jaroslava Heyrovského [1]. Vynesením závislosti proudu na napětí vkládaném na rtuťovou kapající elektrodu v roztoku hydroxidu sodného, který byl ponechán na vzduchu, oproti roztoku, který byl ve vodíkové atmosféře, získáme typickou polarografickou křivku kyslíku, která má dvouvlňový charakter [2].

Pro elektrochemickou redukci kyslíku v kyselém prostředí se obecně navrhuje následující sled reakcí [3]:



V zásaditém prostředí je situace obdobná, kyslík nejprve přijme elektron a vznikne hyperoxidový anion stejně jak v kyselém prostředí (1). Tento anion reaguje s vodou za vzniku hydroperoxylového radikálu (8). Ten přijme další elektron a vznikne hydroperoxidový anion (9). V případě platinové elektrody, na které byl mechanismus studován, se hydroperoxidový anion katalyticky rozkládá na kyslík a hydroxylový anion (10). Za použití elektrody, která nemá katalytickou aktivitu, např. rtuťové, se hydroperoxidový anion redukuje dalšími dvěma elektrony až na vodu [3].



Peroxid vodíku je nejstabilnějším meziproduktem celkového děje. Při použití rtuťových, zlatých a neaktivních uhlíkových elektrod se na polarografické/voltametrické křivce objeví dvě vlny [2]. První odpovídá dvouelektronové redukci kyslíku na peroxid vodíku. Druhá vlna představuje redukci peroxidu na vodu.

Při použití aktivních elektrod (elektrody, jejichž materiál reaguje samovolně s kyslíkem za vzniku oxidů), na kterých se peroxid neredukuje s velkým přepětím, se kyslík redukuje zpravidla v jedné čtyřelektronové vlně.

Při voltametrických analýzách nemusí kyslík působit pouze svým elektrochemickým chováním, ale může také reagovat s povrchem elektrody za vzniku různých oxidů, například na platinových elektrodách bylo nalezeno jedenáct různých oxidů [2]. Stejný jev můžeme pozorovat na stříbrné elektrodě. Dokonce i na některých uhlíkových elektrodách se vytvářejí kyslíkaté sloučeniny na jejich povrchu. Pro pozorování elektrochemického chování kyslíku má největší význam použití rtuťové elektrody, která je vůči tvorbě oxidů inertní.

Tvorba oxidů může mít i další efekt, a tím je snížení limitního difuzního proudu redukce peroxidu vodíku. Tento jev byl popsán na platinové elektrodě. Tvorbu peroxidu vodíku, jako meziprojektu redukce kyslíku, lze dokázat i při vzniku jedné voltametrické vlny. Použijeme-li prstencové uspořádání elektrody, kde se na vnitřní elektrodě kyslík redukuje. Vzniklý peroxid vodíku difunduje k prstenci, kde je detekován jeho oxidací [4]. Snížení limitního difuzního proudu je způsobeno katalytickou oxidací povrchových oxidů, která pro platinovou elektrodu probíhá dle následující reakce [3]:



## 2.2. Odstraňování kyslíku

V mnoha odvětvích analytické chemie je zapotřebí před analýzou odstraňovat kyslík. Hlavním problémem je, že v mnoha analýzách zhoršuje, nebo dokonce znemožňuje jejich provedení. Například přítomnost kyslíku při spektroskopických měřeních souvisejících s luminiscenční analýzou se projevuje zhoršenou stanovitelností, neboť fluorescenční a fosforescenční sloučeniny jsou vysoce náchylné na přítomnost molekulárního kyslíku, který vystupuje jako jejich zhášedlo. Při vysokoúčinné kapalinové chromatografii

(HPLC) je často odvdzdušňována mobilní fáze, neboť rozpuštěné plyny v systému mohou způsobit řadu problémů při separaci látek [5]. Při voltametrických stanoveních ve vodném prostředí jsou největšími problémy skutečnosti, které byly popsány v předchozím oddíle.

### 2.2.1. Odstraňování kyslíku pomocí inertního plynu

Mezi nejstarší a stále nejvíce využívané metody odstraňování kyslíku je jeho vytěsnění z analyzovaného roztoku pomocí jiného plynu. Už v pracích profesora Heyrovského z roku 1922 se k odstraňování kyslíku používalo vybublávání měřeného roztoku pomocí vodíku [1]. Vodík se vzduchem tvoří výbušnou směs a zároveň není zcela inertní, takže se pro stanovení některých látek nehodí. Z těchto důvodů se začal využívat dnes nejpoužívanější dusík. Jeho výhodou je především jeho inertnost a dostupnost. Další možností je argon, který se kvůli své ceně takřka nepoužívá [6].

Dusík se odebírá z tlakové lahve, ale vzhledem k jejím rozměrům a hmotnosti je tento způsob odstranění kyslíku omezen výhradně na laboratoře. Proto se hledaly varianty, které by umožňovaly použití elektroanalytických metod v terénu. Pro tyto účely bylo navrženo jednoduché přenosné zařízení, které využívá bombičky na přípravu sodové vody, která obsahuje oxid uhličitý, nebo šlehačky obsahující oxid dusný. Použití oxidu dusného je univerzálnější, jeho využití není závislé na pH analyzovaného roztoku, avšak se nedá vyloučit jeho možná redukce nebo reakce s určitými složkami v roztoku. Oxid uhličitý lze použít v roztocích o kyselém pH, ale je nutné brát v potaz možnou změnu pH analyzovaného roztoku a s tím spojené ovlivnění u pH závislých reakcí. Navzdory tomu nebyla při stanovení nitrofurazonu a furazolidenu metodou adsorpční voltametrie a při stanovení iontů mědi, olova a zinku v extraktech minerálních olejů metodou anodické rozpouštěcí voltametrie zjištěna odlišnost výsledků při použití různých plynů k odstranění kyslíku [6].

### 2.2.2. Odstraňování kyslíku pomocí redukčního činidla

Další možnost, která nevyužívá vytěsňování kyslíku pomocí inertního plynu, je použití některého redukčního činidla, které by reagovalo s rozpuštěným kyslíkem. Kyslík by se redukoval na vodu, a tím umožňoval průběh stanovení. Tento způsob skýtá

potenciální využití při analýzách vzorků životního prostředí. Pokud by takováto látka byla kapalina, dala by se přidávat do základního elektrolytu, nebo v případě pevných látek by už mohla být umístěna v jednorázové měřicí cele.

Mezi takováto činidla patří siřičitan sodný. Je to bílá krystalická látka. Jeho nasycený vodný roztok má pH 9,4. Roztok vystavený vzduchu podléhá oxidaci, oproti tomu bezvodá forma je mnohem stabilnější. Siřičitan sodný se oxiduje kyslíkem za vzniku síranu sodného (12). Toho se využívá při ochraně proti korodujícím vlastnostem kyslíku, kde siřičitan vystupuje jako takzvaný „scavenger“. Další jeho použití je právě při elektroanalytických stanoveních, při kterých se používá k odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku.



Měření je prováděno buď přímo v roztoku siřičitanu sodného, kde zároveň slouží i jako základní elektrolyt, nebo se přidává do roztoku jen jako redukční činidlo. První varianta byla použita například při stanovení léčiva isosorbid dinitrát, kdy se měření provádělo v roztoku siřičitanu sodného o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  [7]. V  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  roztoku siřičitanu sodného bylo také prováděno stanovení iontů niklu a kobaltu ve vzorku vodovodní vody [8].

Druhá metoda ukazuje, že použití siřičitanu má svá omezení. Měření musí být prováděno v roztoku o neutrálním nebo zásaditém pH. V kyselém prostředí se siřičitan rozkládá a z roztoku se uvolňuje oxid siřičitý. Při stanovení chloramfenikolu se měření provádělo v Brittonově-Robinsonově pufru (BR-pufr), do kterého se před měřením přidal 1 ml roztoku siřičitanu sodného o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Nejlepšího výsledku bylo dosaženo při použití BR-pufu o pH 10, ale stanovení bylo proveditelné i v neutrálním prostředí [9]. 2-Aminofluoren-9-on byl stanoven obdobným způsobem v prostředí BR-pufu o pH 10, jen s tím rozdílem, že se do roztoku přidal siřičitan sodný jako pevná látka. Měření probíhalo v miniaturizovaném systému za použití m-AgSAE jako pracovní elektrody, kdy objem vzorku byl 100  $\mu\text{l}$ . Před měřením se do roztoku se přidávalo 20 mg siřičitanu sodného [10].

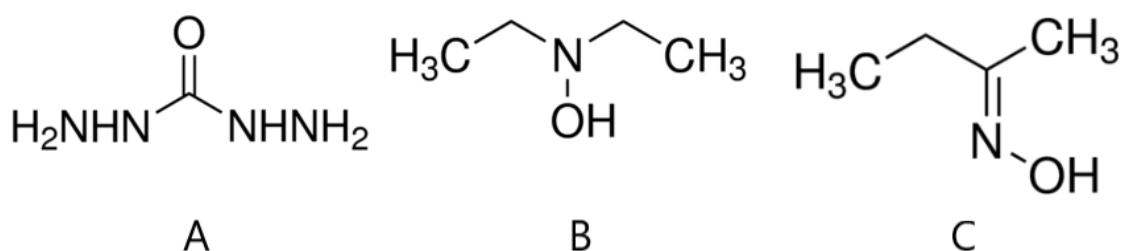
Další látkou, která se používá k odstranění kyslíku v průmyslu (k omezení koroze), je hydrazin. Je to bezbarvá kapalina mísitelná s vodou i s řadou organických rozpouštědel

[11]. S kyslíkom reaguje za vzniku vody a molekuly dusíku (13).



Hydrazin jako redukční činidlo se může použít i v kyselém prostředí, což je jeho velká výhoda oproti siřičitanu. Při stanovení specií jodu a selenu v potravinových doplncích stravy se k analyzovanému roztoku přidává roztok hydrazinu v kyselině sírové o pH 2-3 [12].

Hydrazin je toxický, jeho páry tvoří se vzduchem výbušnou směs a jako tekutý je vysoce žíravý. Z těchto důvodů se hledají látky, které by sloužily jako alternativa hydrazinu. Výzkum společností Arkema představil řadu látek pro použití k odstranění kyslíku z kotelních systémů. Tyto látky byly inspirací k vypracování této bakalářské práce.

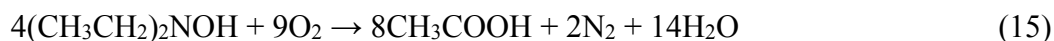


Obr. 2.1 Strukturní vzorec karbohydrazidu (A), *N,N*-diethylhydroxylaminu (B) a 2-butanonoximu (C).

První látkou je karbohydrazid (obr. 2.1A), je to pevná látka, která reaguje s kyslíkem při nízkých teplotách a tlacích za vzniku oxidu uhličitého, molekulového dusíku a vody (14). Za vyšších teplot se rozkládá na hydrazin, který také může reagovat s kyslíkem, ale není to nezbytné pro odstranění kyslíku z roztoku [13].



Další látkou je *N,N*-diethylhydroxylamin (DEHA, obr. 2.1B) – bezbarvá kapalina, která reaguje s kyslíkem za vzniku kyseliny octové, molekulového dusíku a vody (15) [13].



Poslední látkou, která byla vybrána ke zkoumání jejího využití při voltametrických analýzách, byl 2-butanonoxim (MEKO, obr. 2.1C) – bezbarvá těkavá kapalina, která reaguje s kyslíkem za vzniku 2-butanonu, oxidu dusného a vody (16) [13].



### 2.2.3. Jiné způsoby

Další možností, jak odstranit kyslík z analyzovaného roztoku, je použití chromatomembrán, které jsou selektivně propustné pro kyslík. Tako metoda je možná při průtokové analýze, kdy nejprve vzorek přivádíme k chromatomembránové cele a poté až na pracovní elektrodu. Do chromatomembránové cely se musí přivádět roztok, do kterého rozpuštěný kyslík přejde, takzvaný eluent. Tento roztok musí být nejprve zbaven rozpuštěného kyslíku, což se vykonává vybubláváním dusíkem. Tímto způsobem bylo provedeno stanovení iontů kadmia a olova ve vzorku vody, za použití roztoku hydroxidu draselného jako eluentu. Při tomto stanovení nebyl pozorován žádný rozdíl ve stanovitelnosti oproti stanovení, kdy byl z roztoku odstraněn kyslík pomocí dusíku [14].

Fotochemické odstraňování kyslíku bylo studováno v souvislosti s on-line analýzami, kdy je potřeba rychlého odstranění kyslíku. Tato metoda je založena na reakci kyslíku s organickou kyselinou při působení ultrafialového záření. Organická kyselina slouží zároveň jako základní elektrolyt, tudíž je přítomna ve vysoké koncentraci. Bylo zjištěno, že fotochemické odstraňování kyslíku je účinnější než odstraňování pomocí dusíku. Obecně platí, že rychlost odstraňování kyslíku se zvyšuje s koncentrací použité kyseliny. Mezi používané kyseliny patří kyselina mravenčí, citronová, šťavelová, vinná a octová [15].

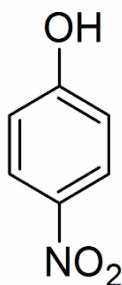
Poslední variantou odstranění kyslíku z měřeného roztoku při voltametrické analýze je využití vhodné oxidasy. To je enzym, který ze substrátu přenáší vodíkové atomy na molekulový kyslík. Produktem takové reakce bývá peroxid vodíku. Proto je potřeba použít další enzym ze skupiny katalas, který katalyzuje disproportionaci peroxidu vodíku [16]. Při měřeních v malém objemu dokáže komplex substrát, oxidasa a katalasa udržet bezkyslíkaté prostředí po dobu jedné hodiny [17].

Použitím metody square wave voltametrie zjistíme, že rozpuštěný kyslík

neinterferuje. Je to metoda, při které se na elektrodu vkládá lineárně měnící se potenciál, ale tento potenciál je tvořen střídavým proudem o vysoké frekvenci. To má za následek, že redukce kyslíku, která je pomalejší než redukce stanovované látky, se při stanovení neprojeví [18]. Tímto způsobem byly stanoveny látky s chinoxalinovým charakterem [19] nebo kaptopril v plazmě a ve farmaceutických přípravcích [20].

### 2.3. 4-Nitrofenol

4-Nitrofenol (obr. 2.2) je světle žlutá až bezbarvá pevná látka s lehkým fenolickým zápachem. 4-Nitrofenol je ve vodě jen omezeně rozpustný ( $12,4 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  při  $20^\circ \text{C}$ ), oproti 2-nitrofenolu, který se rozpouští při laboratorní teplotě snadno [21]. Jedná se o uměle vytvořenou chemikálii, bez žádného důkazu o jakémkoliv přírodním původu.



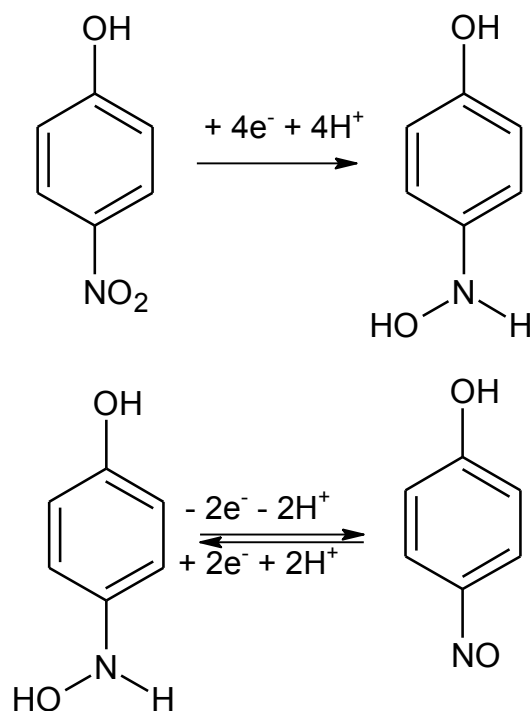
Obr. 2.2 Strukturní vzorec 4-nitrofenolu.

4-Nitrofenol může vznikat v atmosféře fotochemickou reakcí z benzenu a oxidu dusnatého, dále byl nalezen ve výfukových plynech automobilů [22]. Další možností jeho výskytu je degradace pesticidů s nitrofenolickým charakterem, jako je například parathion a parathion-methyl. Tyto pesticidy dnes nejsou většinou povoleny, ale některé se stále mohou používat jako růstové stimulanty v zemědělství [23]. V předchozích případech 4-nitrofenol figuroval jako sekundární polutant, který vzniká až v životním prostředí [21]. Další možností znečištění je odpad z průmyslu, například při vydělávání kůží nebo při výrobě *N*-(4-hydroxyfenyl)acetamidu, komerčně známého jako Paracetamol [23]. Nitrofenoly jsou potenciální karcinogeny, teratogeny a mutageny [24].

V této práci byl 4-nitrofenol studován pouze jako modelová látka, která má ukázat možnost jejího stanovení při odstranění kyslíku různými redukčními činidly. Jeho

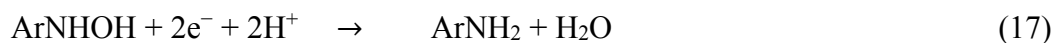


voltametrické stanovení v kyselém a neutrálním prostředí je založené na redukci nitroskupiny. Její mechanismus byl studován pomocí cyklické voltametrie a je znázorněn na obr. 2.3. V prvním kroku je 4-nitrofenol redukován čtyřmi elektrony na 4-hydroxyaminofenol. Tato reakce je ireverzibilní. 4-Hydroxyaminofenol se může reverzibilně oxidovat za vzniku 4-nitrosofenolu [25].



Obr. 2.3 Mechanismus elektrochemického chování 4-nitrofenolu v kyselém a neutrálním prostředí [25].

Přítomnost druhého píku v kyselém prostředí je způsoben redukcí 4-hydroxyaminofenolu na 4-aminofenol (17), kde Ar znamená jakýkoliv arén a jeho deriváty [26].



Situace se stává komplikovanější v prostředí alkalickém. V prvním kroku nitroskupina přijme jeden elektron za vzniku nitroradikálu aniontu (18). Následuje nevratná tříelektronová redukce až na hydroxyaminoskupinu (19). Následně je situace stejná jako v kyselém prostředí [26].





## 2.4. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda

Pracovní elektrody z kovové rtuti, kapající rtuťová elektroda (DME) a visící rtuťová kapková elektroda (HMDE), jsou v polarografii, a v metodách od ní odvozených, považovány za nejlepší variantu. Jedním z důvodů je vysoké přepětí vodíku v oblastech negativních potenciálů, čímž se rozšiřuje potenciální okno. Tento jev se využívá například při anodické rozpouštěcí analýze, kdy se na těchto elektrodách může provádět předběžná akumulace i vysoce elektronegativních kovů. Dalším důvodem je výborná reprodukovatelnost měření při použití pracovních elektrod z kovové rtuti, ta je způsobena dokonalou obnovitelností elektrodového povrchu [27, 28].

Voltametrické metody mají značné uplatnění při enviromentální analýze. Elektrody z kovové rtuti v tomto ohledu mají velké využití především při stanovení organických redukovatelných látek. V posledních letech se od používání rtuti upouští, nebo se použití rtuti jako elektrodového materiálu zakazuje [29], a to především kvůli jejím vědecky nepodloženým obavám z toxicity. Toto však není jediná komplikace těchto elektrod při použití v terénu. Dalším problémem je, že nejsou dostatečně mechanicky odolné. Z těchto důvodů se hledaly elektrodové materiály, které by vyhovovaly těmto nárokům a zároveň si ponechaly vlastnosti elektrod z kovové rtuti [30].

Z tohoto hlediska si získaly velkou pozornost stříbrné amalgamové elektrody. Tyto pracovní elektrody se připravují prostým naplněním skleněné trubičky práškovým stříbrem a následným ponořením do kapalné rtuti. Takto připravenou elektrodu lze mechanickým vyleštit, tím vznikne leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda (p-AgSAE). Při voltametrických měření je však vhodnější m-AgSAE. Tato elektroda má lepší opakovatelnost měření a vykazuje nižší šum. m-AgSAE lze snadno připravit ponořením p-AgSAE do čisté rtuti a po několika sekundách se vytvoří meniskus, který má dokonale hladký povrch [31].

### 3. Experimentální část

#### 3.1. Chemikálie

Zásobní roztok 4-nitrofenolu ( $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich, Indie) o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byl připraven navážením 0,0139 g 4-nitrofenolu, který byl kvantitativně převeden deionizovanou vodou do 100 ml odměrné baňky a doplněn po rysku.

Kyselá složka Brittonova-Robinsonova pufru o koncentraci  $0,04 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byla připravena smícháním 4,62 ml kyseliny octové (99 %, p.a., Penta, Praha, Česká republika), 5,43 ml kyseliny fosforečné (85 %, p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika) a rozpuštěním 4,95 g kyseliny borité (p.a., Lachema, Brno, Česká republika) v 2 l deionizované vody. Zásaditá složka BR-pufu o koncentraci  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byla připravena rozpuštěním 8,0 g hydroxidu sodného (p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika) v 1 l deionizované vody.

Aktivační roztok o koncentraci  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  byl připraven rozpuštěním 3,73 g chloridu draselného (p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika) v 250 ml deionizované vody.

Dalšími použitými chemikáliemi byla redukční činidla *N,N*-diethylhydroxylamin ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich, Francie), 2-butanonoxim (99 %, Sigma-Aldrich, Velká Británie) a karbohydrazid (98 %, Sigma-Aldrich, Čína), deionizovaná voda (Millipore Milli-Q Plus System, Millipore, USA),  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (velikost částic 1,1  $\mu\text{m}$ ) a čistá rtuť. Jako poslední činidlo bylo použit nasycený roztok siřičitanu sodného při 20 °C, který byl připraven rozpuštěním 26,6 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (p.a., Lachema, Brno, Česká republika) v 100 ml deionizované vody.

#### 3.2. Aparatura

Měření probíhalo na analyzátoru Eco-Tribo polarograf (Polaro-Sensors, Praha, Česká republika) řízeném softwarem PolarPro 5.1 (Polaro-Sensors, Praha). Sestava byla řízena osobním počítačem v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

Pro stanovení bylo použito tříelektrodové zapojení. Jako pracovní elektroda byla použita m-AgSAE 207 11 b (Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, Praha, Česká republika). Argentchloridová referentní elektroda (Elektrochemické detektory, s. r. o., Trutnov, Česká republika) typu 10–20+polaro byla použita jako referentní elektroda.

Jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda typu ETP CZ P01506 (Eco-Trend Plus, Praha, Česká republika).

BR-pufry o různých pH byly připraveny mísením kyselé a zásadité složky. Přesné hodnoty pH BR-pufry byly získány pomocí digitálního pH-metru Jenway 3510 (Jenway, Velká Británie). Jako pH elektroda byla použita kombinovaná skleněná elektroda (typ 924 005) od stejného výrobce. Kalibrace přístroje byla prováděna pomocí standardních kalibračních pufů o pH 4,00, 7,00 a 9,00.

### 3.3. Pracovní postupy

#### 3.3.1. Předúprava elektrody

Předúprava m-AgSAE se skládá ze čtyř základních kroků. Nejprve byla elektroda vyleštěna pomocí leštící suspenze ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Poté se elektroda ponořila do lahvičky s kapalnou rtutí po dobu 15 s, kde se obnovil meniskus elektrody. Dalším krokem byla elektrochemická aktivace pomocí roztoku KCl o koncentraci  $0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , která měla za následek odstranění látek adsorbovaných na povrchu elektrody. Aktivace se prováděla tak, že se na elektrodu vložilo napětí  $-2200 \text{ mV}$  po dobu 5 minut. Poslední krokem byla regenerace elektrody, která byla prováděna před každým měřením. Regenerace spočívala ve skokovém střídání mezi počátečním potenciálem a potenciálem konečným. Celkem bylo provedeno 150 takovýchto cyklů v intervalu 0,1 s. U jednotlivých pH BR-pufry byly nalezeny počáteční ( $E_{\text{in}}$ ) a konečné ( $E_{\text{fin}}$ ) regenerační potenciály, které jsou shrnuty v tabulce 3.1.

**Tabulka 3.1:** Regenerační potenciály použité při voltametrických měřeních při různých pH BR-pufu.

pH	$E_{in}$ mV	$E_{fin}$ mV
2	0	-1200
4	0	-1400
6	0	-1500
8	0	-1750
10	0	-1900
12	-150	-1900

### 3.3.2. Voltametrie

Měření byla prováděna metodou DPV, při které byly na pracovní elektrodu vkládaly pulzy o výšce  $-50$  mV, o šířce  $100$  ms a rychlosti nárůstu potenciálu  $20$  mV s $^{-1}$ .

Při voltametrických měřeních účinnosti odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku byly nejdříve měřeny roztoky BR-pufu o pH 2, 4, 6, 8, 10 a 12. Měření bylo prováděno v celkovém objemu  $10$  ml. Nejprve byly změřeny základní elektrolyty s rozpuštěným kyslíkem. Následně se do těchto roztoků přidalo redukční činidlo,  $100$   $\mu$ l nasyceného roztoku siřičitanu sodného,  $100$   $\mu$ l *N,N*-diethylhydroxylaminu,  $100$   $\mu$ l 2-butanonoximu nebo  $40$  mg karbohydrazidu, a roztoky byly analyzovány. Pro porovnání výsledků bylo provedeno stejné měření, při kterém byl kyslík z roztoku odstraněn pomocí pětiminutového bublání dusíkem.

Následně byly stejným způsobem změřeny roztoky 4-nitrofenolu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4}$  mol·l $^{-1}$ . Do  $10$  ml odměrné baňky byl odpipetován  $1$  ml zásobního roztoku 4-nitrofenolu a doplněn po rysku BR-pufrem o daném pH. Takto připravený vzorek byl kvantitativně převeden do voltametrické nádoby.

### 3.3.3. Zpracování výsledků

K zpracování výsledků a k tvorbě grafů, které jsou v této práci, byl použit program MS Excel 365 (Microsoft Corporation, USA).

## 4. Výsledky

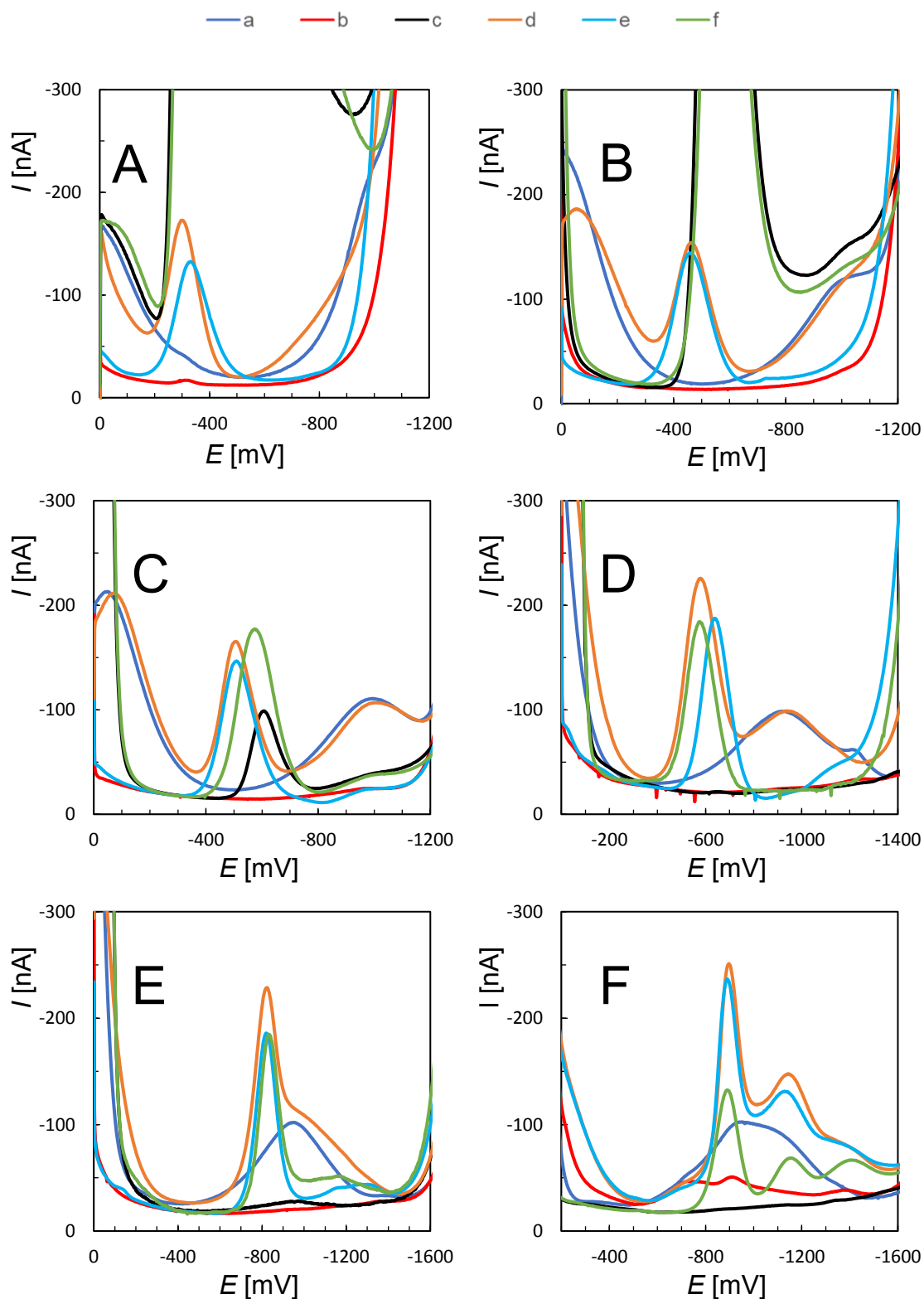
### 4.1. Odstranění kyslíku pomocí siřičitanu sodného

Byla studována možnost odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku při voltametrických stanoveních pomocí nasyceného roztoku siřičitanu sodného v závislosti na různých hodnotách pH BR-pufu v rozsahu od pH 2,0 do pH 12,0. Jako modelová látka pro toto pozorování byl použit 4-nitrofenol o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Získané závislosti proudu na vkládaném potenciálu jsou na obr. 4.1.

Při pH 2 (obr. 4.1A) se většina přidaného siřičitanu rozkládá na oxid siřičitý. Při méně negativních potenciálech od 0 do  $-100 \text{ mV}$  nevidíme žádnou změnu oproti základnímu elektrolytu. Zbytek potenciálového okna překrývá pík s maximem  $-570 \text{ mV}$ . Tento pík odpovídá dvuelektronové redukci oxidu siřičitého na kyselinu sirnatou [32, 33]. U pH 4 (obr. 4.1B) je převažující formou přidaného siřičitanu hydrogensiřičitanový anion [33]. Ten reaguje s kyslíkem za vzniku hydrogensíranového anionu. To ukazuje pokles proudu na začátku grafu oproti základnímu elektrolytu. Ale vlivem vzniku píku odpovídajícího redukci oxidu siřičitého, jehož potenciál je blízký potenciálu píku 4-nitrofenolu, pík redukce 4-nitrofenolu nepozorujeme. Situace je podobná i při pH 6 (obr. 4.1C). U měření základního elektrolytu s přidavkem roztoku siřičitanu sodného je kyslík z roztoku vyredukován, ale stále probíhá redukce oxidu siřičitého. To opět znemožňuje stanovení 4-nitrofenolu.

Nad pH 7,2 je většina přidaného siřičitanu ve formě siřičitanového iontu [33]. U měření při pH 8 (obr. 4.1D) a 10 (obr. 4.1E) byl kyslík z roztoku odstraněn se stejnou účinností jako při bublání dusíkem a stanovení 4-nitrofenolu je možné. Výška píku při obou metodách odstranění kyslíku byla stejná. Při použití siřičitanu dochází ke zmenšení potenciálového okna elektrody oproti použití dusíku.

Použití siřičitanu při pH 12 (obr. 4.1E) bylo účinnější než bublání dusíkem. Avšak toto pH už není pro stanovení vhodné. Jednak se 4-nitrofenol redukuje už třístupňovým mechanismem, a také už dochází k rozpouštění elektrody při potenciálu otevřeného obvodu.



Obr. 4.1 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí siřičitanu sodného při pH BR-pufry 2 (A), 4 (B), 6 (C), 8 (D), 10 (E) a 12 (F). a) Základní elektrolyt s přítomným vzdušným kyslíkem, b) základní elektrolyt bublaný 5 min  $N_2$ , c) základní elektrolyt s přidavkem 100  $\mu$ l roztoku  $Na_2SO_3$ , d) vzorek 4-nitrofenolu s přítomným vzdušným kyslíkem, e) vzorek 4-nitrofenolu bublaný 5 min  $N_2$  a f) vzorek 4-nitrofenolu s přidavkem 100  $\mu$ l roztoku  $Na_2SO_3$ .

## 4.2. Odstranění kyslíku pomocí *N,N*-diethylhydroxylaminu

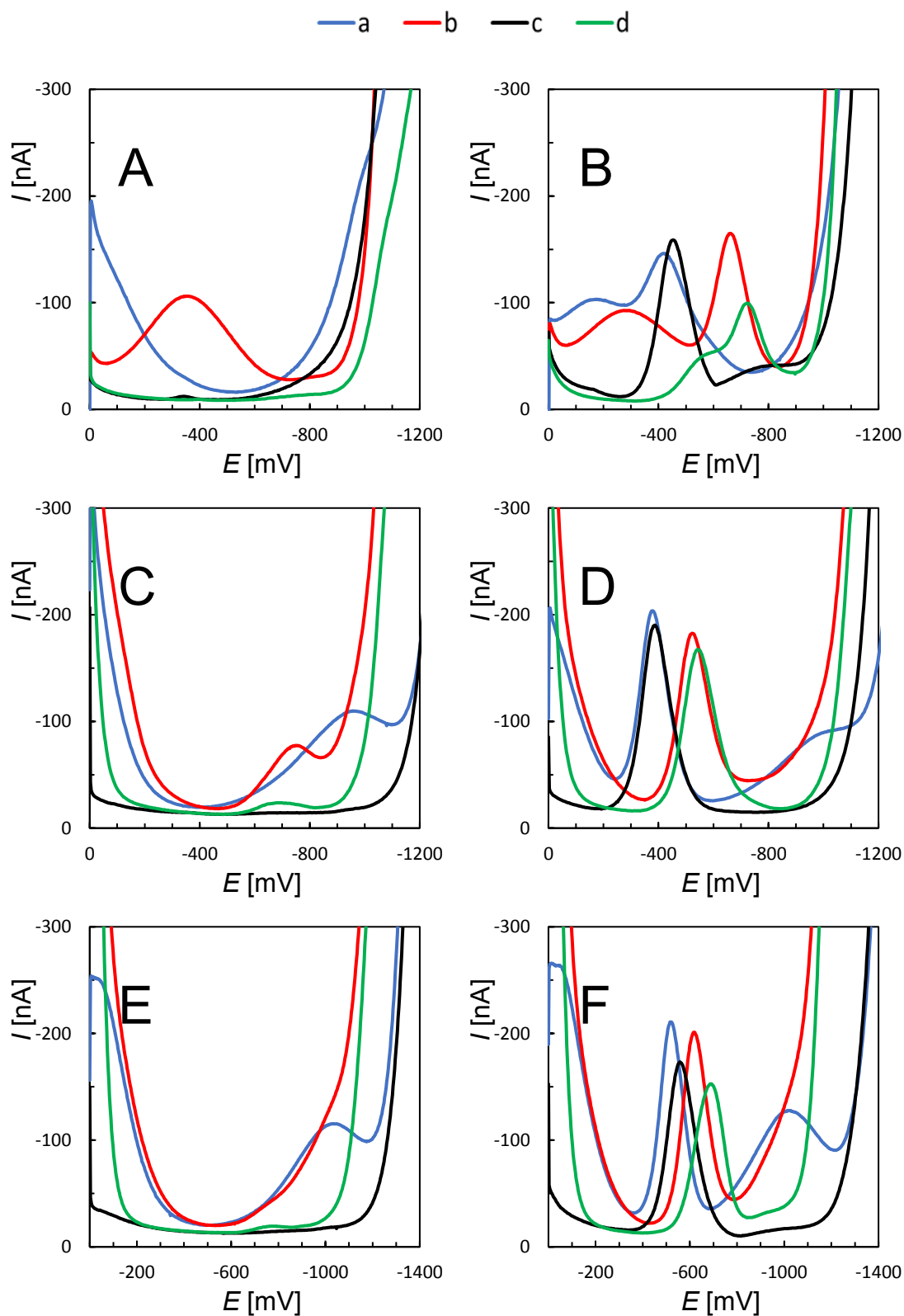
Jako další byla studována možnost odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku při voltametrických stanoveních pomocí DEHA v závislosti na různých hodnotách pH BR-pufu v rozsahu od pH 2,0 do pH 12,0. Modelovou látkou pro toto pozorování byl opět použit 4-nitrofenol o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Závislosti proudu na vkládaném potenciálu jsou na obr. 4.2 a obr. 4.3.

V kyselém prostředí, při pH 2 (obr. 4.2A a obr. 4.2B), 4 (obr. 4.2C a 4.2D) a 6 (obr. 4.2E a 4.2F), není DEHA elektrochemicky aktivní. Kyslík je v roztoku přítomen i po přidavku DEHA. Vlivem DEHA došlo k posunutí píku kyslíku i 4-nitrofenolu k zápornějším potenciálům. To může být způsobeno ovlivněním pH roztoku nebo může dojít k modifikaci elektrody ovlivňující elektrodovou reakci. Dále se po přidavku DEHA zmenšilo potenciálové okno.

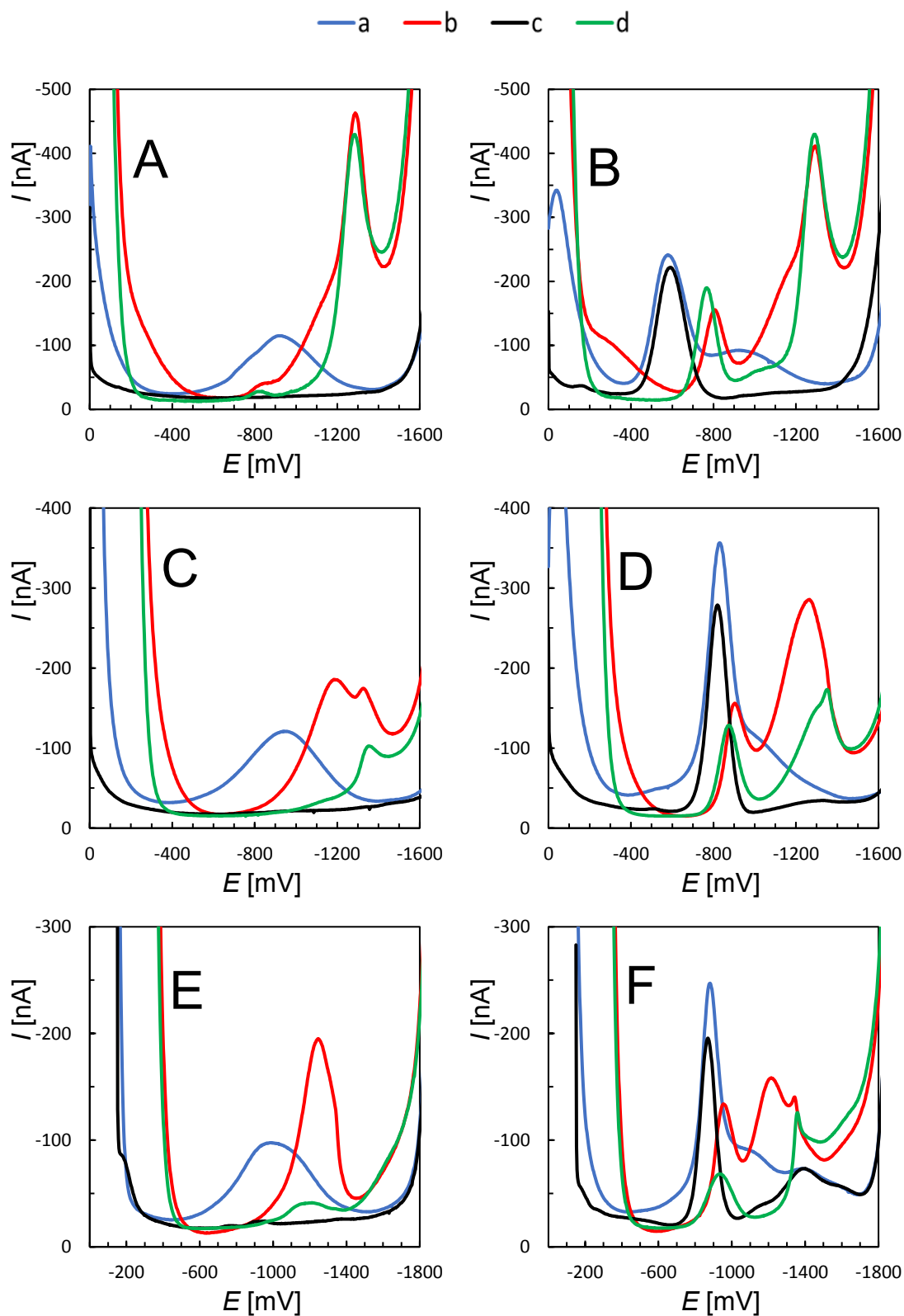
Při pH 8 (obr. 4.3A a 4.3B) vlivem působení DEHA dochází k snížení proudu píku pro 4-nitrofenol. Po přidavku DEHA nebyla pozorována změna ohledně kyslíku, ale přibyl pík s maximem  $-1290 \text{ mV}$ , který s největší pravděpodobností odpovídá redukci hydroxylaminoskupiny ve struktuře DEHA. Opět došlo k posunutí píku 4-nitrofenolu k zápornějším potenciálům.

V alkalickém prostředí, pH 10 (obr. 4.3C a 4.3D) a 12 (obr. 4.3E a 4.3F), pozorujeme pík, který vznikl po přidavku DEHA do nevybublaného roztoku. Při přidavku DEHA k roztoku bublaného dusíkem tento pík nepozorujeme. Mohl by to být účinek reakce DEHA s kyslíkem, při kterém by vznikl oxidovaný meziprodukt DEHA, který by se mohl zpětně redukovat na elektrodě, nebo by mohl vzniknout peroxid vodíku, který by se dále redukoval na elektrodě. Dalším vysvětlením by bylo, že by DEHA s kyslíkem nereagoval, a tento pík je jen elektrochemická redukce kyslíku. Dále působením DEHA došlo ke snížení píku 4-nitrofenolu. Pro stanovení 4-nitrofenolu je použití DEHA nevhodné. Pík 4-nitrofenolu je blízko píku vzniklého po přidavku DEHA. Při stanovení látky, která se redukuje při vyšším potenciálu, by šlo DEHA využít.





Obr. 4.2 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí *N,N*-diethylhydroxylaminu při pH BR-pufu 2 (A, B), 4 (C, D) a 6 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 100  $\mu$ l DEHA, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 100  $\mu$ l DEHA.



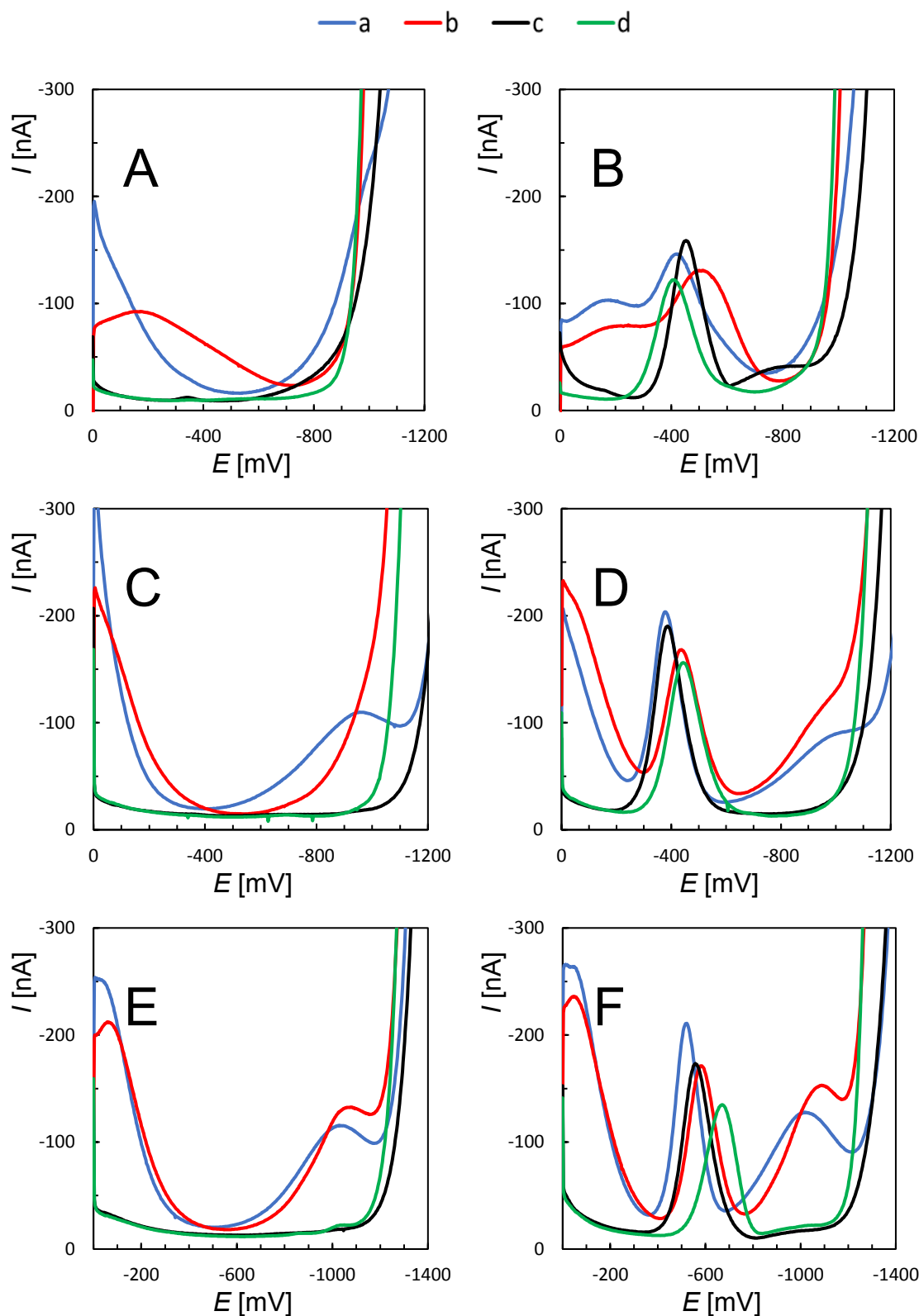
Obr. 4.3 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí *N,N*-diethylhydroxylaminu při pH BR-puftru 8 (A, B), 10 (C, D) a 12 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 100  $\mu$ l DEHA, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 100  $\mu$ l DEHA.

### 4.3. Odstranění kyslíku pomocí 2-butanonoximu

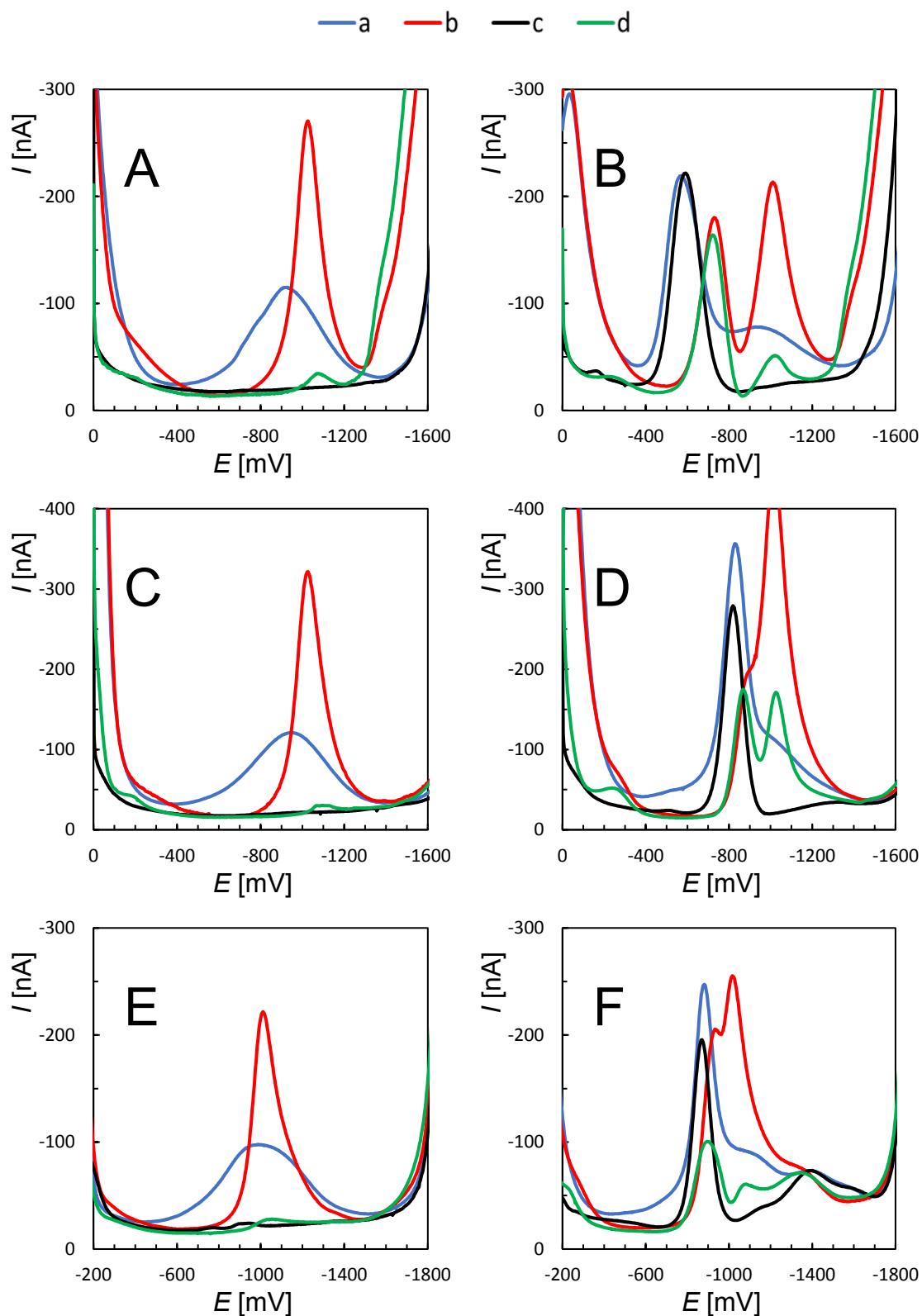
Byla také studována možnost odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku při voltametrických stanoveních pomocí MEKO v závislosti na různých hodnotách pH BR-pufu v rozsahu od pH 2,0 do pH 12,0. Jako modelový analyt pro toto pozorování byl i zde použit 4-nitrofenol o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Závislosti proudu na vkládaném potenciálu jsou na obr. 4.4 a obr. 4.5.

V kyselém prostředí, při pH 2 (obr. 4.4A a 4.4B), 4 (obr. 4.4C a 4.4D) a 6 (obr. 4.4E a 4.4F), nebylo po přidavku MEKO dosaženo odstranění kyslíku z měřeného roztoku. Vlivem působení MEKO došlo k posunutí píku kyslíku a 4-nitrofenolu směrem k zápornějším potenciálům. Důvodem může být ovlivnění pH roztoku nebo může dojít k modifikaci elektrody. Dále došlo ke snížení píku 4-nitrofenolu oproti vzorku bublaného dusíkem.

Při pH 8 (obr. 4.5A a 4.5B), 10 (obr. 4.5C a 4.5D) a 12 (obr. 4.5E a 4.5F) dochází k snížení proudu píku pro 4-nitrofenol stejně jako v kyselém prostředí. Po přidavku MEKO do nevybublaného roztoku pozorujeme pík. Mohl by to být účinek reakce MEKO s kyslíkem, při kterém by vznikl oxidovaný produkt MEKO, který by se mohl zpětně redukovat na elektrodě, nebo by se kyslík nemusel zcela redukovat a mohl by vzniknout peroxid vodíku. Při přidavku MEKO k roztoku bublaného dusíkem pozorujeme na záznamu menší pík a hodnota základní linie je nižší než u roztoku bublaného dusíkem. Pro stanovení 4-nitrofenolu je použití MEKO nevhodné. Pík 4-nitrofenolu je blízko píku vzniklého po přidavku MEKO. Při stanovení látky, která se redukuje při vyšším potenciálu, by bylo možné MEKO využít.



Obr. 4.4 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí 2-butanonoximu při pH BR-pufu 2 (A, B), 4 (C, D) a 6 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 100  $\mu$ l MEKO, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 100  $\mu$ l MEKO.

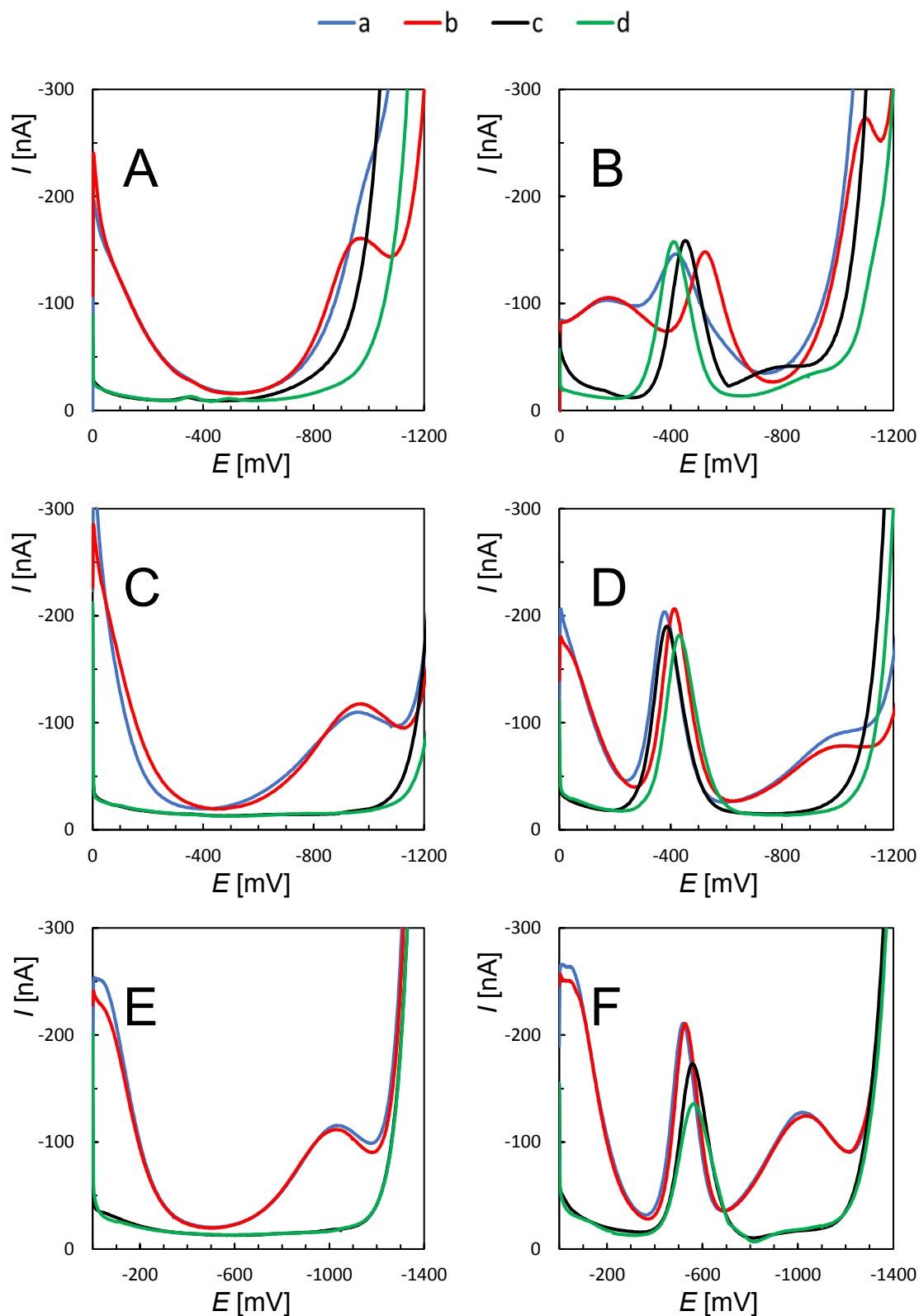


Obr. 4.5 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí 2-butanonoximu při pH BR-pufu 8 (A, B), 10 (C, D) a 12 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 100  $\mu$ l MEKO, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 100  $\mu$ l MEKO.

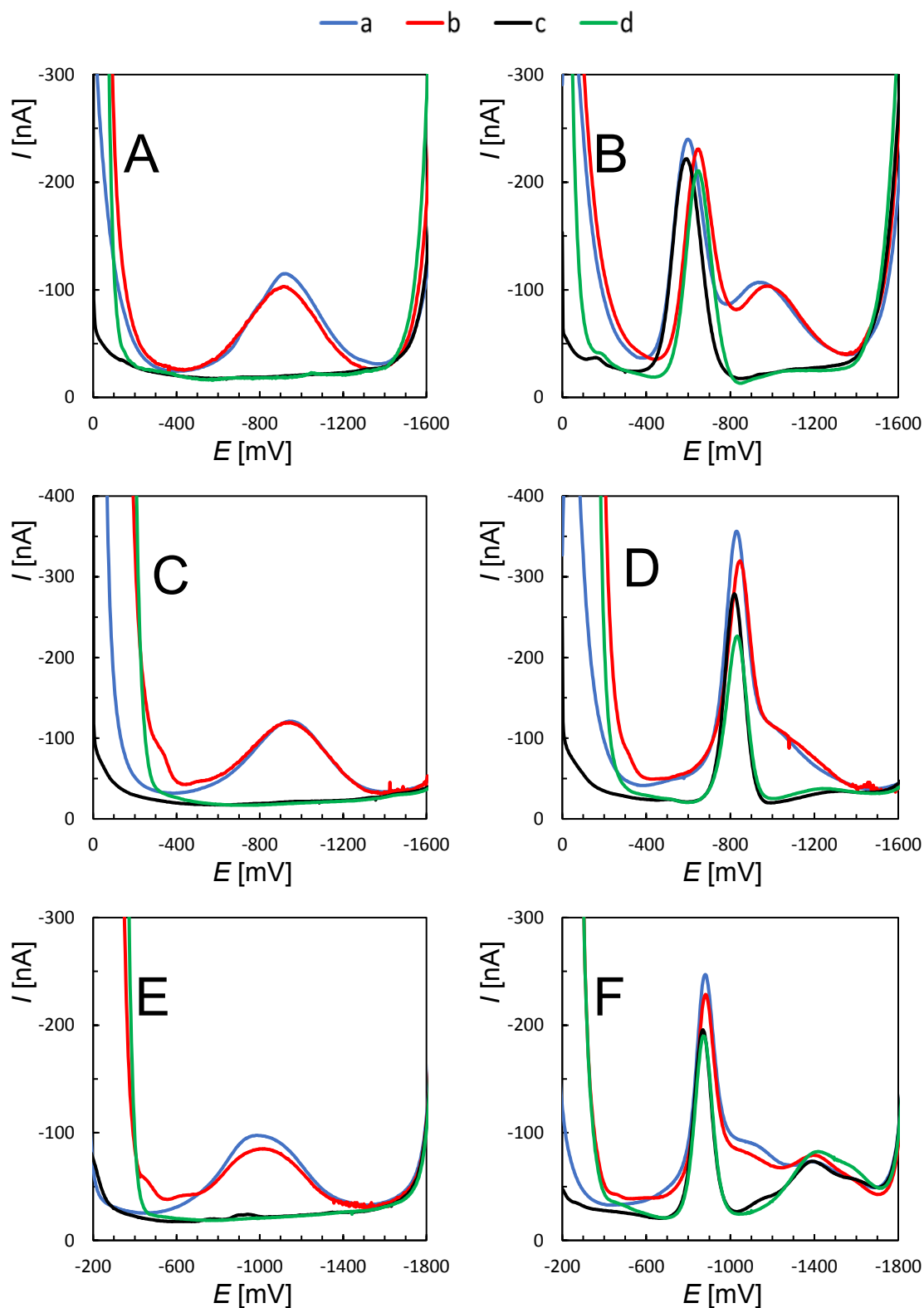
#### 4.4. Odstranění kyslíku pomocí karbohydrazidu

Jako poslední byla studována možnost odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku při voltametrických stanoveních pomocí karbohydrazidu v závislosti na různých hodnotách pH BR-pufu v rozsahu od pH 2,0 do pH 12,0. Jako modelová látka pro toto pozorování byl použit 4-nitrofenol o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Závislosti proudu na vkládaném potenciálu jsou na obr. 4.6 a obr 4.7.

Použití karbohydrazidu k odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku nemělo na signál kyslíku žádný vliv. Z porovnání křivek roztoků obsahujících rozpuštěný vzdušný kyslík a roztoku, do kterých byl přidán karbohydrazid, vidíme, že tyto křivky jsou takřka identické. Při použití karbohydrazidu dochází ke zmenšení potenciálového okna elektrody.



Obr. 4.6 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí karbohydrazidu při pH BR-pufu 2 (A, B), 4 (C, D) a 6 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 40 mg karbohydrazidu, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 40 mg karbohydrazidu.



Obr. 4.7 DP voltamogramy ilustrující odstranění kyslíku pomocí karbohydrazidu při pH BR-pufu 8 (A, B), 10 (C, D) a 12 (E, F) vzorku základního elektrolytu (A, C a E) a vzorku 4-nitrofenolu (B, D a F). a) Vzorek s přítomným vzdušným kyslíkem, b) vzorek s přidavkem 40 mg karbohydrazidu, c) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  a d) vzorek bublaný 5 min  $N_2$  do kterého bylo přidáno 40 mg karbohydrazidu.



## 5. Závěr

V této bakalářské práci byla studována možnost odstranění kyslíku z analyzovaných roztoků při voltametrickém stanovení organických látek. Pro odstranění kyslíku z analyzovaného roztoku byla zvolena cesta jeho chemické redukce.

Odstanění kyslíku pomocí siřičitanu sodného bylo úspěšné v prostředích o pH 8, 10 a 12. V těchto prostředích je tato metoda vhodná pro stanovení 4-nitrofenolu. V kyselém prostředí je stanovení 4-nitrofenolu neuskutečnitelné.

Druhou látkou byl karbohydrazid, u kterého bylo prokázáno, že s rozpuštěným kyslíkem nereaguje a na elektrochemické chování systému nemá vliv.

Použitím *N,N*-diethylhydroxylaminu v prostředích o pH 10 a 12 byl z roztoku úspěšně odstraněn kyslík. Avšak stanovení 4-nitrofenolu je nemožné z důvodu vzniku meziproduktu reakce *N,N*-diethylhydroxylaminu s kyslíkem.

Poslední látkou byl 2-butanonoxim, kterým byl při pH 8, 10 a 12 úspěšně odstraněn kyslík. Opět vlivem produktu reakce s kyslíkem nelze 2-butanonoxim použít pro stanovení 4-nitrofenolu.

V navazujícím výzkumu bude zkoumána možnost použití *N,N*-diethylhydroxylaminu a 2-butanonoximu při stanovení jiných látek, které jsou snáze redukovatelné. Rovněž bude budoucí výzkum zaměřen na objasnění jevů, které nebyly v této práci vysvětleny.

## Literatura

1. Heyrovský, J.: Elektrolysa se rtuťovou kapkovou kathodou. *Chem. Listy* **16**, 256–264 (1922).
2. Březina, M.; Říha, J.: Elektrochemie kyslíku. *Chem. Listy* **74**, 737–750 (1980).
3. Hoare, J., P.: *The Electrochemistry of Oxygen*. New York, Interscience Publishers. 1968.
4. Müller L.; Nekrassow L.: Untersuchung des elektrochemischen reduktionsprozesses von sauerstoff an platin mit hilfe der rotierenden scheibenelektrode mit Ring. *Electrochim. Acta* **9**, 1015–1023 (1964).
5. Zhao, C.; Bond, A., M.; Compton, R., G.; O'Mahony, A., M.; Rogers, E., I.: Modification and implications of changes in electrochemical responses encountered when undertaking deoxygenation in ionic liquids. *Anal. Chem.* **82**, 3856–3861 (2010).
6. Langmaier, J.; Opekar, F.; Šestáková, I.: Přenosné zařízení pro odstraňování kyslíku z roztoku při elektrochemické analýze. *Chem. Listy* **85**, 102–104 (1991).
7. Parham, H.; Zargar, B.: Determination of isosorbide dinitrate in arterial plasma, synthetic serum and pharmaceutical formulations by linear sweep voltammetry on a gold electrode. *Talanta* **55**, 255–262 (2001).
8. Farghaly, O., A.: Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city: an approach to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode. *Microchem. J.* **75**, 119–131 (2003).
9. Pastor, F., T.; Dejmková, H.; Zima, J.; Barek, J.: Determination of chloramphenicol by differential pulse voltammetry at carbon paste electrodes –The use of sodium sulfite for removal of oxygen from electrode surface. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **75**, 383–397 (2011).
10. Hájková, A., Vyskočil, V., Josypčuk, B., Barek, J.: A miniaturized electrode system for voltammetric determination of electrochemically reducible environmental pollutants. *Sens. Actuators, B* **227**, 263–270 (2016).
11. Housecroft, C.; Sharpe, A., G.: *Inorganic Chemistry*. 4. vyd. London, Pearson. 2012.

12. Deryabina, V., I.; Slepchenko G., B.; Fam Kam N'ung; Ho Shi Lin': Voltammetry behavior of iodine and selenium on new organo-modified electrodes: Development of a procedure for the determination of iodine and selenium. *J. Anal. Chem.* **68**, 896–899 (2013).
13. <https://www.subsport.eu/wp-content/uploads/2012/05/alternative-to-hydrtazine-USA-2001-k.pdf>, stav ke dni 8.8.2018.
14. Reinke, R.; Simon, J.: The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric techniques by the chromatomembrane method. *Anal. Bioanal. Chem.* **374**, 1256–1260 (2002).
15. Barisci, J., N.; Wallace, G., G.: Removal of oxygen in flowing solutions using a photochemical process. *Electroanalysis* **4**, 323–326 (1992).
16. Kodíček, M.; Valentová, O.; Hynek, R.: *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2015.
17. Plumeré, N.; Henig, J.; O'Mahony, A., M.; Campbell, H., W.: Enzyme-catalyzed O<sub>2</sub> removal system for electrochemical analysis under ambient air: Application in an amperometric nitrate biosensor. *Anal. Chem.* **84**, 2141–2146 (2012).
18. Mirčeskyi, V.; Komorsky-Lovrić S.; Lovrić M.: *Square-Wave Voltammetry: Theory and Application*. Berlin, Springer. 2007.
19. Barros, A., A.; Rodrigues, J., A.; Almeida, P., J.; Rodrigues, P., J.; Fogg, A., G.: Voltammetry of compounds cononed at the hanging mercury drop electrode surface. *Anal. Chim. Acta* **385**, 315–323 (1998).
20. Parham, H.; Zargar, B.: Square-wave voltammetric (SWV) determination of Captopril in reconstituted serum and pharmaceutical formulations. *Talanta* **65**, 776–780 (2005).
21. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockkey=91014VKR.txt>, stav ke dni 1.8.2018.

22. Lüttke, J.; Scheer, V.; Levsen, K.; Wünsch, G.; Cape, J., N.; Hargreaves, K., J.; Storeton-West, R., L.; Acker, K.; Wieprecht, W.; Jones, B.: Occurrence and formation of nitrated phenols in and out of cloud. *Atmos. Environ.* **31**, 2637–2648 (1997).
23. Fischer, J.; Vanourkova, L.; Danhel, A.; Vyskocil, V.; Cizek, K.; Barek, J.; Peckova, K.; Yosypchuk, B.; Navratil T.: Voltammetric determination of nitrophenols at a silver solid amalgam electrode. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2**, 226–234 (2007).
24. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp50.pdf>, stav ke dni 8.8.2018.
25. Dinesh, B.; Saraswathia, R.: Electrochemical synthesis of nanostructured copper-curcumincomplex and its electrocatalytic application towards reduction of 4-nitrophenol. *Sens. Actuators, B* **253**, 502–512 (2017).
26. Yosypchuk, O.; Karásek, J.; Vyskocil, V.; Barek, J.; Peckova, K.: The use of silver solid amalgam electrodes for voltammetric and amperometric determination of nitrated polyaromatic compounds used as markers of incomplete combustion. *Sci. World J.* **2012**, 231986 (2012).
27. Mikkelsen, O.; Schroder, K., H.: Amalgam electrodes for electroanalysis. *Electroanalysis* **15**, 679–687 (2003).
28. Yosypchuk, B.; Barek, J.: Vlastnosti pevných a pastových amalgamových pracovních elektrod odlišné od elektrod z kovové rtuti. *Chem. Listy* **103**, 284–290 (2009).
29. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52005DC0020&from=EN>, stav ke dni 8.8.2018.
30. Novotný, L.; Yosypchuk, B.: Pevné stříbrné amalgamové elektrody. *Chem. Listy* **94**, 1118–1120 (2000).
31. Vyskočil, V.; Daňhel, A.; Fischer, J.; Novotný, V.; Deýlová, D.; Musilová-Karaová, J.; Maixnerová, L.; Pecková, K.; Barek, J.: Krása a užitečnost nových elektrodových materiálů. *Chem. Listy* **104**, 1181–1195 (2010).

32. Ramos, R., M.; Gonçalves, L., M.; Vyskočil, V.; Rodrigues J., A.: Free sulphite determination in wine using screen-printed carbon electrodes with prior gas-diffusion microextraction. *Electrochem. Commun.* **63**, 52–55 (2016).
33. Ramos, R., M.; Brandão, P., F.; Gonçalves, L., M.; Vyskočil, V.; Rodrigues, J., A.: Electrochemical sensing of total sulphites in beer using non-modified screen-printed carbon electrodes. *J. Inst. Brew.* **123**, 45-48 (2017).